Göttingen 1953

ÜBER

ASPERGILLORUBIN

VON

HELENE HERRMANN

Über

ASPERGILLORUBIN

einen roten Farbstoff

aus einem Aspergillus niger

Stamm

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Georg-August-Universität zu Göttingen

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

vorgelegt von

HELENE HERRMANN

aus Nürnberg

Referent: Prof. Dr. Hans Brockmann
Coreferent: Prof. Dr. August Rippel
Tag der mündlichen Prüfung: 20. 11. 1953

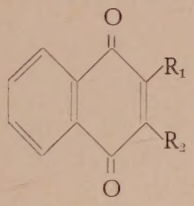
INHALTSVERZEICHNIS

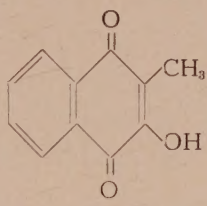
Seite

A. Einleitung 5
B. Gewinnung des Farbstoffs 6
C. Konstitutionsermittlung 9
1) Bisherige Untersuchungen 9
2) Reinigung des Farbstoffs 9
3) Chemische Umsetzungen 11
Analyse und Zinkstaubdestillation 11
Derivate: 12
a) Dimethyläther 12
b) Triacetat 12
c) Tribenzoat 12
d) Pentaacetat 13
Diskussion von 1, 2, 3a bis d 14
e) Abbau zur Juglonsäure 15
f) Dehydrierung 16
D. Methodische Studien an Oxynaphtochinonen . . 17
1) Spektren 17
a) normale 17
b) Pyroboracetate 19
2) Ringchromatogramme 20
3) Redoxpotentialmessungen 23
E. Synthese des 2, 3, 5-Trioxynaphtochinon 27
Zusammenfassung der Ergebnisse 34
Experimenteller Teil 34
Literaturverzeichnis 49

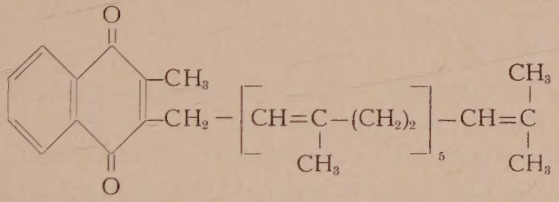
A. EINLEITUNG

Zahlreichen Bakterien- und Pilzarten kommt die Fähigkeit zu, Farbstoffe chinoider Struktur zu bilden. Schon 1899 berichtete Beyerinck (1) über die Bildung eines Chinons durch einen *Streptothrix chromogena* genannten Mikroorganismus des Bodens. 1933 wurde als erstes Naphthochinon (I) bakteriellen Ursprungs Phthiocol (II) aus menschlichen Tuberkelzellen isoliert. Ebenfalls ein Naphthochinonderivat ist das in zahlreichen Mikroorganismen vorkommende Vitamin K_2 (III).

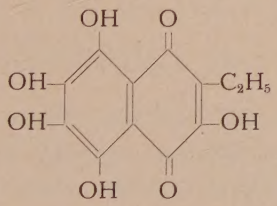
I 

II 

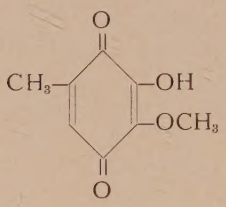
R bedeutet meistens OH- oder Alkylgruppen.

III 

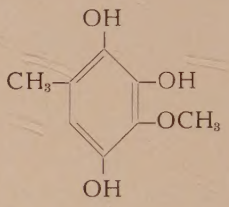
Haben Chinone in ihrer Eigenschaft als Oxydations-Reduktionssysteme eine Bedeutung? Dieser naheliegende Gedanke hat eine Reihe von Forschern dazu bewogen, ihre biologische Rolle zu studieren. Über die Funktionen einiger weniger dieser Stoffe Klarheit zu erlangen, ist in den letzten 15 Jahren gelungen, z. B. an den Vitaminen K und dem Echinochrom (IV), dem Farbstoff aus *Arbacia pustolosa*. Jedoch ist die biologische Bedeutung der Mehrzahl solcher Verbindungen bisher immer noch unerforscht.

IV 

Eine erstaunlich große Zahl Chinone verschiedenster Konstitution konnten als End- oder Zwischenprodukte des Stoffwechsels vieler Pilze vorgefunden werden. Mit der Erforschung dieser Substanzen haben sich besonders Raistrick und Mitarbeiter (2) befaßt. Sie beobachteten, daß eine Anzahl der Chinonderivate in den Pilzmycelen oder in den Kulturflüssigkeiten auch in der Hydrochinonform vorliegen können. So wiesen sie in der Kulturflüssigkeit von *Aspergillus fumigatus* neben Fumigatin (V) auch das entsprechende Hydrochinon (VI) nach.



V



VI

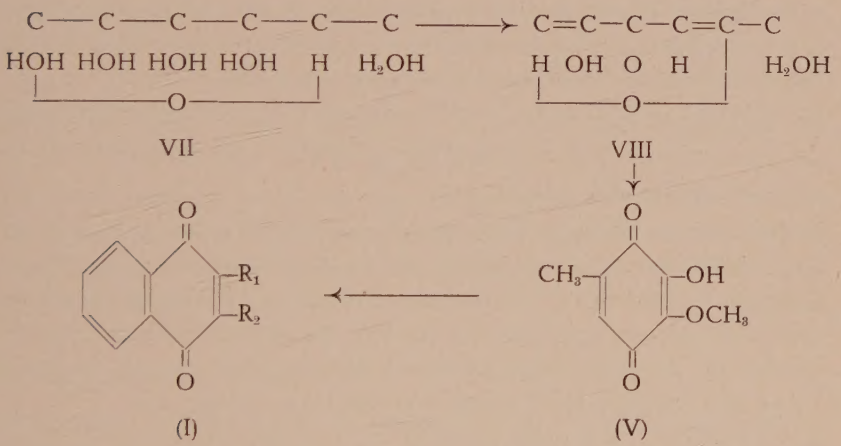
Nun wurde im Göttinger Institut für Mikrobiologie aus einer *Aspergillus niger* Kultur ein roter Farbstoff isoliert, der mit einem von Bortels (3) vor 25 Jahren beobachteten Farbstoff identisch zu sein schien, und in dem man, früheren Untersuchungen von Dietzel und Grubhofer (4) zufolge, ein Naphthochinonderivat vermutete. Küster (5) suchte — im Rahmen einer Arbeit über die Konstitutionsaufklärung der Huminsäure — experimentell u. a. die Umwandlung dieses chinoiden Farbstoffs in huminsäureähnliche Stoffe zu verfolgen.

Diesen roten Farbstoff der *Aspergillus niger* Kultur, den wir Aspergillorubin genannt haben, zu untersuchen und die Struktur aufzuklären war meine Aufgabe, über deren Lösung berichtet werden soll.

B. GEWINNUNG DES FARBSTOFFES

Die von Raistrick aus niedrigen Pilzen isolierten Substanzen wurden durchwegs von Organismen erzeugt, die auf ihren künstlichen Nährböden Glukose (VII) als einzige Kohlenstoffquelle hatten. Von

dieser Tatsache ausgehend, hat Tatum (6) eine Theorie der Biosynthese der pilzlichen Stoffwechselprodukte aufgestellt, indem er annahm — und Kluvier und Perquin (7) haben die Richtigkeit dieser Annahme mit Versuchen an einer Aspergillus flavus Kultur bestätigt — daß als Zwischenprodukt Kojisäure (VIII) entsteht; durch Ringschlüsse, für die er die Mitwirkung spezifischer Gene verantwortlich macht, kommt er von der Kojisäure zu Verbindungen vom Typus des Fumigatin (V) und durch Kondensation solcher Produkte zu Naphthochinonen (I).



Da es sich bei dem aus *Aspergillus niger* isolierten Farbstoff mutmaßlich um ein Naphthochinonderivat handelte, lag die Annahme nahe, daß zwischen Zucker als Nährstoff und der Entwicklung des Farbstoffs ein Zusammenhang besteht. Tatsächlich entwickelte der untersuchte Aspergillenstamm den roten Farbstoff nur, wenn als Kohlenstoffquelle Zucker angesetzt wurde. Die beste Ausbeute ergab folgende Zusammensetzung der Nährlösung:

Zucker	2 %	$MgSO_4$	0,05 %
KH_2PO	0,15 %	$FeSO_4$	0,0005%
$NaNO_3$	0,5 %	$ZnCl_2$	0,0025%

Eine weitere Bedingung für eine gute Entwicklung des Aspergillenrots liegt darin, daß für das Wachstum des Stammes genügend Sauerstoff zur Verfügung steht. Beim Ansetzen war es wichtig, daß die P Kolben nur mit 750 ccm Nährlösung gefüllt wurden und die Stopfen nur sehr locker gewickelt waren. Es zeigte sich häufig, daß bei schlechter Belüftung die Kulturlösung nur schwach rot gefärbt wurde.

Waren diese Bedingungen erfüllt, so wurde nach etwa drei Wochen die maximale Farbstoffbildung erreicht, d. h., die Kulturlösung hatte eine burgunderrote Farbe angenommen und konnte aufgearbeitet werden. Um zu vermeiden, daß beim Abfiltrieren des Mycels von der Kulturlösung zu viel Sporen — und damit den Farbstoff verunreinigende Substanzen — in die Nährlösung gelangten, wurde diese direkt aus den P Kolben unter der Myceldecke abgesaugt.

Die abgesaugte Kulturlösung wurde durch Wasser ersetzt und es ergab sich dadurch, daß eine nochmalige, wenn auch geringere, Farbstoffbildung erreicht wurde.

Diese Tatsache, daß eine Unterschichtung des Mycels mit Wasser zu einer erneuten Farbstoffbildung führt, läßt Zweifel an den Überlegungen von T a t u m (6) aufkommen. Denn der Farbstoff kann hier doch wohl nur ein Autolyseprodukt sein. Es wäre allerdings möglich, daß bei der Autolyse selbst Zucker erneut gebildet wird, — wodurch T a t u m s Überlegungen wiederum bestätigt würden.

Bei der Isolierung von Farbstoffen aus Kulturlösungen ist es allgemein von großem Vorteil, wenn der Farbstoff in einem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel löslich ist. Als günstigstes Verfahren, das Aspergillenrot anzureichern, erwies sich die Methode, die mit Schwefelsäure bis zum $P_H 2$ angesäuerte Kulturlösung mit Butylacetat auszurühren oder auszuschütteln. Zur endgültigen Trennung der beiden Phasen mußte in beiden Fällen zentrifugiert werden. Beim Ausschütteln mit einer gesättigten Natriumbikarbonatlösung ging das im Butylacetat mit gelber Farbe gelöste Aspergillenrot mit tiefvioletter Farbe in die Bikarbonatlösung. Aus dieser wurde der Farbstoff mit Äther extrahiert, und nach dem Abdampfen des Äthers erhielt man aus 100 Liter Nährlösung durchschnittlich 500 mg eines amorphen roten Produktes, des Aspergillorubins.

C. KONSTITUTIONSERMITTLUNGEN

1. Bisherige Untersuchungen.

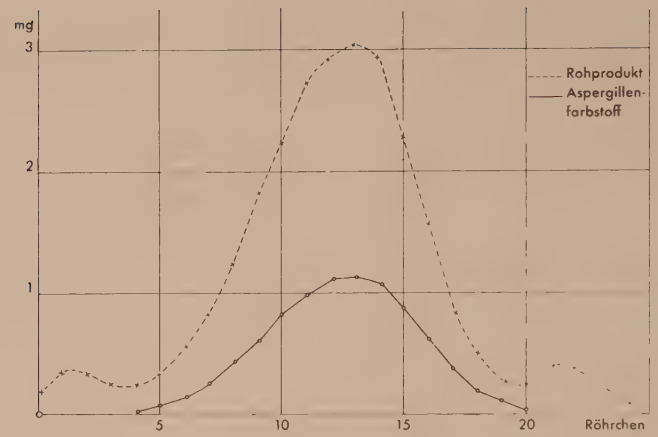
Auf Grund von orientierenden Beobachtungen, die man während der Isolierung des Farbstoffs aus seiner Kulturlösung machen konnte, haben D i e t z e l und G r u b h o f e r (4) verschiedene Untersuchungen durchgeführt. Aspergillorubin löste sich in Natronlauge mit blauvioletter, in konzentrierter Schwefelsäure mit blutroter Farbe. Die Boressigesterreaktion verlief positiv. Eine katalytische Hydrierung gab Anhaltspunkte für das Molekulargewicht, eine konduktometrische Titration für das Äquivalentgewicht. Auch weitere Untersuchungen, wie die Darstellung eines Dimethyläthers, eines Pyridinsalzes und einer $SnCl_2$-Additionsverbindung gaben zwar wertvolle Hinweise für die Konstitution des Farbstoffs, jedoch noch kein klares Bild.

Nach den beim A c t i n o m y c i n (8) gemachten Erfahrungen war zu vermuten, daß dem Farbstoff, der für diese Versuche zur Verfügung stand, noch Verunreinigungen anhafteten und daß es deshalb von großer Wichtigkeit war, ihn rein darzustellen.

2. Reinigung des Farbstoffs.

Bei der Reindarstellung von Produkten, die man aus Mikroorganismen isolierte, wie beim Actinomycin, hat sich die Methode der Gegenstromverteilung sehr bewährt. Ich wählte daher zunächst dieses Verfahren zur Reinigung des Rohproduktes von Aspergillorubin.

In der G r u b h o f e r ' s c h e n (9) Gegenstromverteilungsapparatur ließ sich maximal 1 g Rohprodukt verteilen. Die Verteilungen gingen über 24 Stufen zwischen den beiden Phasen Äther (peroxydfrei durch $FeSO_4$) und Phosphatpuffer (nach Sörensen P_H 6,1). Dabei ergab sich folgendes Bild: Zwischen einem kleinen Maximum am Anfang und einem ebensolchen am Ende der Verteilung erhielt man ein Hauptmaximum zwischen den Stufen 12 und 18. Brauchbar zur Gewinnung des Aspergillorubins waren, wie aus der nachstehenden Kurve zu ersehen ist, die Fraktionen des Hauptmaximums.



Die Fraktionen der Stufen 12—18 wurden gesammelt und mit Schwefelsäure vorsichtig angesäuert; es ging dabei aller Farbstoff in die Ätherphase. Nach dem Verdampfen des Äthers und Umkristallisieren des Rückstandes wurden 230—240 mg eines kristallinen dunkelroten Produktes erhalten, das bis 360° keinen Schmelzpunkt hatte. Weitere 100 mg eines halbkristallinen Produktes ergaben sich aus dem Rückstand der Fraktionen 7—11, die jedoch zur nochmaligen Reinigung einer zweiten Verteilung unterworfen wurden. Die Fraktionen 1—6 und 19—24 wurden verworfen.

Dieses Produkt wurde papierchromatographisch auf Reinheit geprüft.

Ich bevorzugte in diesem Falle das Ringchromatogramm. Die Gründe dafür und nähere Einzelheiten habe ich später ausführlich geschildert.

Dabei ergab sich, daß noch Verunreinigungen vorhanden waren. So wurde eine weitere Reinigung durch Sublimation vorgenommen. Aspergillorubin sublimiert bei 10^{-2}—10^{-3} mm Hg bei 110°. Dabei war die Ausbeute gering (etwa 40%).

Die geringe Ausbeute scheint jedoch nicht nur an den Verunreinigungen zu liegen. Wie ich in Vergleichsversuchen feststellte, waren die Ausbeuten bei der Sublimation anderer Oxynaphthochinone ebenfalls gering.

Da das Ringchromatogramm dieses Produktes immer noch ein uneinheitliches Bild zeigte, wurde die Substanz einer weiteren Reinigung durch Chromatographieren einer Chloroformlösung an Gips unterworfen. Durch Nachwaschen der Säule mit Chloroform und Eindampfen der Lösung erhielt man aus 50 mg Substanz 35 mg eines fast reinen Produktes, das durch mehrfaches Umkristallisieren aus Aceton-Wasser noch weiter gereinigt wurde. Es bildeten sich rote längliche Kristalle, die bis 360° keinen Schmelzpunkt hatten.

Ringchromatogramm und Analyse zeugten von einer ziemlich großen Reinheit des Produktes; die Messungen des Absorptionsspektrums zeigten, daß es noch nicht ganz einwandfrei war. Jedoch brachten weitere verlustreiche Reinigungsoperationen keinen wesentlichen Vorteil mehr, so daß das so dargestellte Produkt für die folgenden Versuche verwendet wurde.

Aspergillorubin-Kristalle

3. Chemische Umsetzungen.

Wie schon geschildert, lagen bereits Anhaltspunkte über die Konstitutionen des Aspergillorubins vor. Die Analyse hatte für die Substanz eine Bruttoformel von $C_{10}H_6O_5$ ergeben; es waren keine C-Methyl-,

O-Methyl- oder Acetylgruppen gefunden worden. Die Zerewitinoffbestimmung brachte das Vorhandensein von 2 aktiven H. Die Substanz reagierte nicht sauer und zeigte in Natriumbikarbonatlösung eine blauviolette Färbung.

Zunächst mußte das dem Farbstoff zu Grunde liegende Kohlenstoffgerüst ermittelt werden. Aus einem Handversuch ging hervor, daß eine Reduktion des Aspergillorubins mit Zinkstaub zu einem Produkt führte, das sich als Naphthalin erwies. Der Versuch wurde bestätigt durch eine im größeren Maßstab durchgeführte Reduktion mit reinstem Zinkstaub, bei der man durch Destillation farblose Plättchen vom Schmelzpunkt 78° erhielt; der Mischschmelzpunkt mit Naphthalin ergab keine Depression. Auch der Mischschmelzpunkt des Pikrats (Schmelzpunkt 140°) mit dem Naphthalinpikrat brachte die Bestätigung über das Vorliegen eines Naphthalingrundgerüsts.

Als nächstes waren die Sauerstoffunktionen festzulegen.

a) Methylierung.

Grubhofer (4) hatte bei der Methylierung mit Diazomethan einen Dimethyläther in Form rotgelber Kristalle vom Schmelzpunkt 250° erhalten. Dieser Versuch wurde von mir nachgearbeitet und brachte dieselben Ergebnisse.

b) Acetylierung.

Zunächst versuchte ich die Acetylierung mit Acetylchlorid in Pyridin durchzuführen. Die Reaktionsbedingungen schienen jedoch für den Farbstoff ungünstig zu sein, denn es wurde nur ein öliger Rückstand erhalten. Wurde die Reaktion jedoch in Acetanhydrid/Schwefelsäure durchgeführt, so erhielt ich glatt ein kristallines Triacetat, das beim Umkristallisieren aus Essigester hellgelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 154° lieferte.

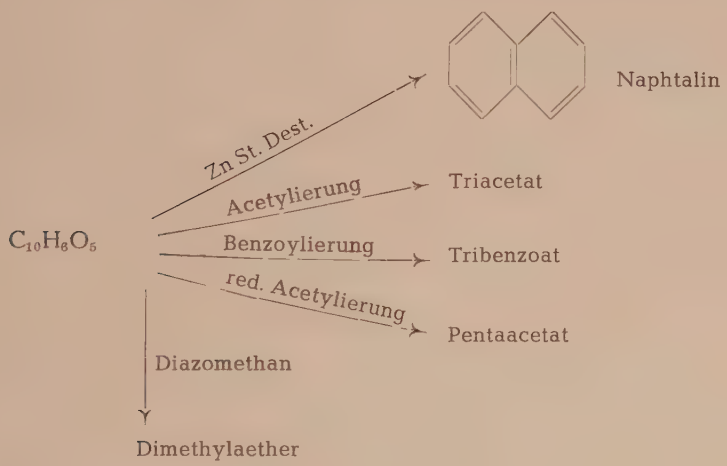
c) Benzoylierung.

Die Benzoylierung des Aspergillorubins ging mit Benzoylchlorid in Pyridin glatt vonstatten. Das Endprodukt wurde zur Reinigung in Benzol gelöst, an Gips chromatographiert. Die aus Benzol/Petroläther umkristallisierten farblosen Kristalle ergaben ein Tribenzoat.

d) Reduzierende Acetylierung.

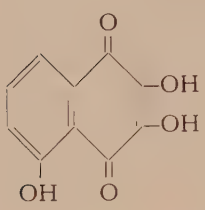
Die reduzierende Acetylierung, ausgeführt in sorgfältig über Natrium destilliertem Essigsäureanhydrid mit Zinkstaub, verlief ebenfalls glatt und ergab ein farbloses Produkt, das aus Benzol/Petroläther in farblosen Nadeln (Schmelzpunkt 183°) kristallisierte und 5 Acetylgruppen enthielt.

Diese Ergebnisse möchte ich folgendermaßen zusammenfassen:

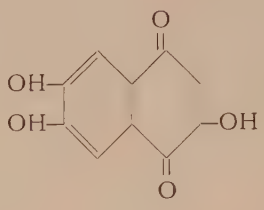


Die Zinkstaubdestillation hatte zu Naphthalin geführt. Zwei aktive H hatte die Analyse ergeben und der D i methyläther dieses bestätigt. Dagegen war bei der Acetylierung ein T r i acetat, bei der Benzoylierung ein T r i benzoat entstanden. Daraus war zu ersehen, daß 2 OH Gruppen gleichwertig zu sein schienen und die dritte OH Gruppe eine Sonderstellung einnehmen mußte. Die reduzierende Acetylierung lieferte ein P e n t a acetat. Dadurch ist die Anwesenheit von 2 Chinon-CO Gruppen bewiesen und die Funktion der restlichen beiden O Atome geklärt.

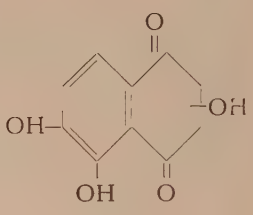
Nun erhob sich die Frage nach der Stellung der OH Gruppen und zur Diskussion standen folgende Formeln, zwischen denen entschieden werden mußte.



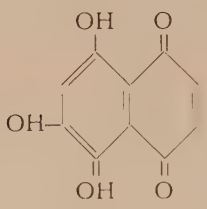
I



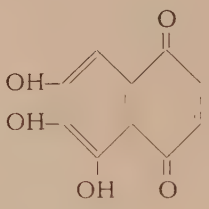
II



IV



III



V

Aus der Tatsache, daß nur zwei aktive Wasserstoffe, nur zwei Säureäquivalente und bei der Methylierung mit Diazomethan nur ein Dimethylderivat gefunden wurden, wurde der Schluß gezogen, daß eine OH Gruppe in α Stellung steht, während zwei weitere Gruppen β ständig sind.

Durch den Dimethyläther sind die Formeln 3 und 5 ausgeschlossen.

Nach Pfeiffer (10) bindet in Oxychinonen jede β ständige OH Gruppe ein Mol Pyridin. Sind die beiden OH Gruppen benachbart, so ist aus sterischen Gründen nur eine der beiden zur Salzbildung befähigt. Da Aspergillorubin ebenfalls nur ein Mol Pyridin bindet, ist man zum Schluß berechtigt, daß die beiden OH Gruppen benachbart sind.

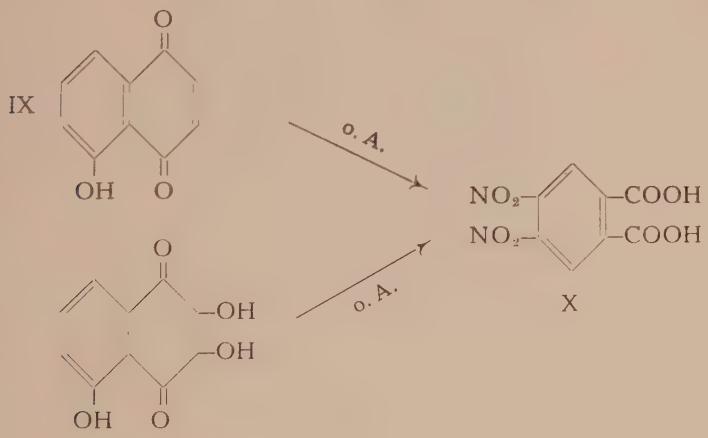
Die glatte Methylierbarkeit mit Diazomethan ohne Nebenprodukte spricht dafür, daß der chinoide Ring besetzt ist, weil nach Fieser

und Peters (11) Naphtochinone mit freier 2- und 3-Stellung sehr leicht mit Diazomethan in Imidazolderivate übergehen.

Reaktionen auf freie β Stellen im chinoiden Ring nach Schönberg (12) mit Triphenylmethan waren negativ.

Auf Grund der Befunde von Fieser, Pfeiffer und Schönberg scheiden die Formeln 2 und 4 aus und es resultiert die Formel 1.

Um die Beweiskraft dieser Argumente zu stärken, versuchte ich weiter die α OH Gruppe chemisch sicherzustellen. Am aussichtsreichsten erschien der oxydative Abbau, denn wir finden ein Analogon im Juglon (IX). Beim oxydativen Abbau von Juglon mit Salpetersäure erhält man Juglonsäure (X). Wenn die beiden OH Gruppen am Chinonring sitzen, müßte beim Abbau des Aspergillorubin mit Oxydationsmitteln auch Juglonsäure zu erwarten sein.



e) Abbau zur Juglonsäure.

Um für den oxydativen Abbau des Aspergillorubin zur Juglonsäure die Versuchsbedingungen zu ermitteln, wurde die Oxydation zunächst mit Juglon durchgeführt. Die Substanz wurde mit Salpetersäure acht

Stunden am Rückfluß erhitzt. Die Reaktion ging unter Gasentwicklung vonstatten, die Lösung entfärbte sich. Nach Abtrennung harziger Nebenprodukte durch Abfiltrieren der Lösung, wurde das Oxydationsprodukt durch Ätherextraktion aus der Lösung gewonnen. Der Rückstand ergab nach dem Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther feine gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 117°.

Diese Reaktionsbedingungen auf Aspergillorubin angewandt, führten zu demselben Ergebnis. Das Endprodukt war wiederum, wenn auch in geringerer Ausbeute, gelbe feine Nadeln, die einen Schmelzpunkt von 118—119° hatten.

Der Mischschmelzpunkt der beiden Substanzen ergab keine Depression. Ebenso erwiesen sich die beiden Juglonsäuren bei einem Mischringchromatogramm als identisch.

Mischchromatogramm der Juglonsäuren
aus Juglon und Aspergillorubin
Papier 2043a
Dibutyläther / H_2O

Damit ist Formel I chemisch bewiesen.

f) Dehydrierung.

Vor dem Abbau hatte ich versucht, durch Dehydrierung des Aspergillorubin Aufschluß über die Konstitution zu erhalten. Kuhn und Wallenfels (12) hatten Oxynaphtochinone dehydriert mit Ag_2O, das nach einem Verfahren von

Willstätter und Pfannenstiel (13) hergestellt war. Ich führte zunächst einen Modellversuch mit 2,3 Dioxynaphtochinon durch. Der Farbstoff wurde in absolutem Äther gelöst und mit Silberoxyd geschüttelt. Da nach vier Stunden keine Dehydrierung erreicht war, wurde die Lösung am Rückfluß erwärmt, wobei die zunächst rote Lösung hellgelb wurde und eine blauweiße Fluoreszenz zeigte.

Für Aspergillorubin schienen diese Reaktionsbedingungen zu milde zu sein. Zahn (14) hat mitgeteilt, daß eine Dehydrierung des Naphtazarins nur mit Bleitetraacetat möglich sei, da alle anderen Mittel versagten. Da ich aus anderen Versuchen aktiviertes Manganoxyd zur Hand hatte, versuchte ich damit die Dehydrierung des Aspergillorubins und sie gelang. Aus dem hellgelben Öl, das als Rückstand der Dehydrierung verblieb, kristallisierten hellgelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von ca. 80°. Wie auch für die Lösung der Dehydroverbindung des 2,3 Dioxynaphtazarins angegeben, fluoreszierte die Lösung des dehydrierten Aspergillorubin intensiv blauweiß.

Die Ergebnisse waren aber nicht sicher genug.

D. METHODISCHE STUDIEN AM OXYNAPHTOCHINON

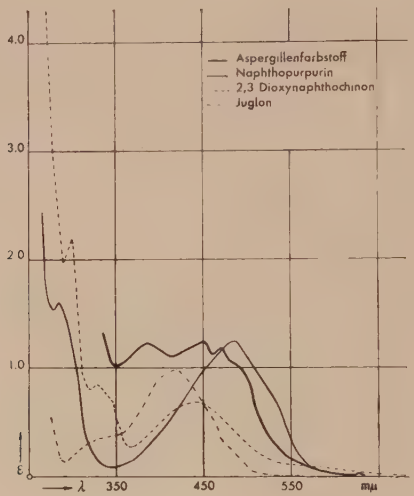
1) Spektren.

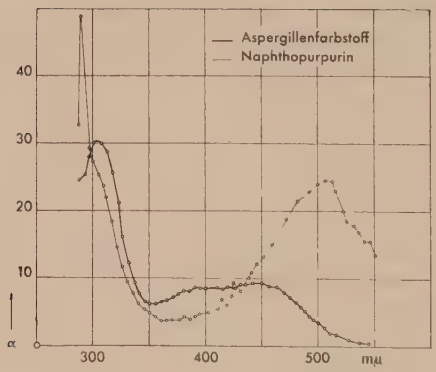
Bei der Konstitutionsermittlung des Aspergillorubin tauchte die Frage auf, wieweit Spektren, sowohl die normalen als die der Pyroboracetate, zur Konstitutionsermittlung von Oxynaphtochinon herangezogen werden können.

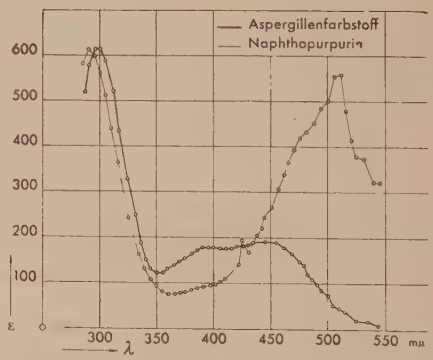
Zunächst wurde bei den Absorptionsmessungen im Beckmann-Gerät die Beobachtung gemacht, daß die methyl- und äthylalkoholische gelbrote Lösung des Aspergillorubins in hohen Verdünnungen in einen blaustichig-roten Farbton umschlug. Die Ursache dieser Farbtonänderung scheint in einer Störung durch Lösungsmittelassoziation zu liegen, wie sie bei Alkoholen vorkommt (15). Ein quantitativ durchgeführter Vergleich mit einer Naphtopurpurinlösung zeigte, wenn auch in geringem Maße, denselben Effekt.

Die Absorptionsmessungen der Substanzen Juglon, 2,3 Dioxynaphtochinon und Naphtopurpurin in Eisessig ergaben die charakteristischen Bilder der Spektren von Oxynaphtochinonen, wie wir sie bei zahlreichen Autoren finden. Aus den nachstehenden Kurven ist zu ersehen, daßdas Aspergillorubin lediglich in dem Bereich zwischen 300 und 450mμ eine Ähnlichkeit mit einem anderen Trioxynaphtochinon, dem Naphto-

purpurin, aufweist. Der Verlauf der Kurve in den anderen Bereichen ist uncharakteristisch. Man kann daraus jedoch nicht entnehmen, ob dieses Verhalten auf die verschiedene Stellung der Substituenten zurückzuführen ist, — da ein 2,3,5 Trioxynaphtochinon noch nicht bekannt ist — oder ob der Reinheitsgrad der Substanz, trotz der Vielseitigkeit der Verfahren, für diese Messungen nicht ausreichend war.







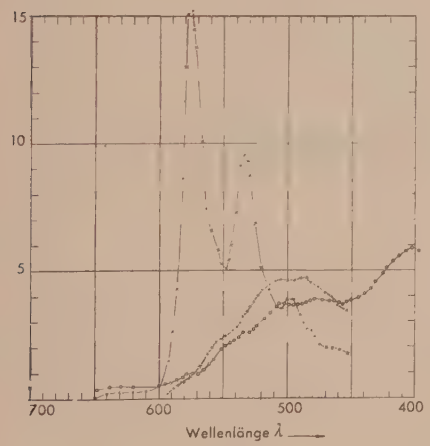
Absorptionsspektren gemessen in Eisessig

Die spektroskopischen Messungen der Pyroboracetate, ausgeführt mit den Substanzen Juglon, Aspergillorubin und Naphtopurpurin, zeigten, wie aus der nachstehenden Tabelle hervorgeht, die Ähnlichkeit zwischen Juglon und Aspergillorubin, wohl bedingt durch die Stellung der OH Gruppen.

	+ Borsäurelösung		1 Minute gekocht
Juglon	Farbvertiefung	Endabsorption u. keine Bande	KB
Aspergillorubin	Farbvertiefung	Endabsorption u. keine Bande	KB
Naphtopurpurin	Farbvertiefung	581, 555, 534, 509.	584.

Die Ergebnisse, die aus den spektroskopischen Messungen gewonnen wurden, fanden eine Bestätigung in den Messungen der Absorptionsspektren der Pyroboracetatlösungen.

Die nachstehenden Kurven veranschaulichen die durch die Stellung der einen OH Gruppe hervorgerufene Ähnlichkeit zwischen Aspergillorubin und Juglon.

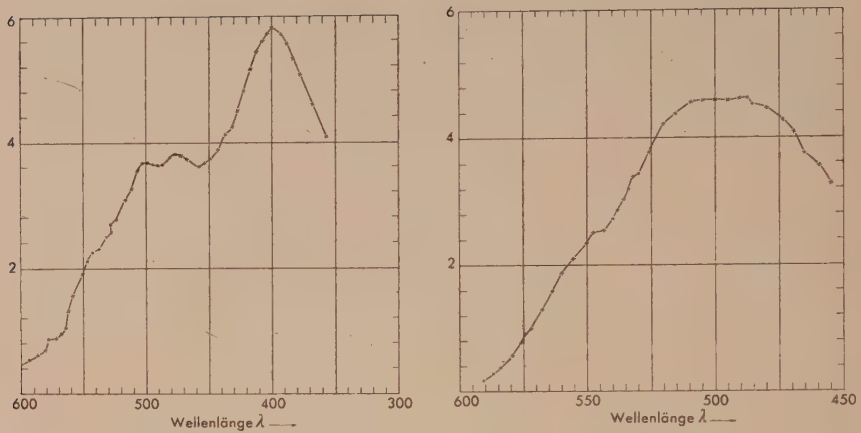


Naphtopurpurin ——————

Aspergillorubin ——·——·——

Juglon ----------

Absorptionsspektren der Pyroboracetatlösungen



Aspergillorubin Juglon

Absorptionsspektren der Pyroboracetate

Auf Grund der beobachteten Veränderlichkeit der Meßlösungen (16) ließen sich die Messungen nur qualitativ auswerten.

2) Die Ringchromatogramme.

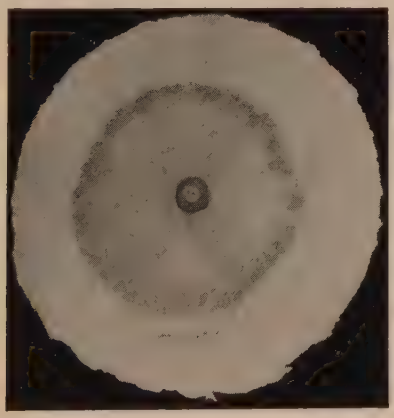
Die bewährte Methode der Ringchromatographie habe ich auf Untersuchungen über Oxynaphtochinone ausgedehnt.

Zur Methodik wäre zu sagen, daß sich die Methode von Zimmermann und Nehring (17) und von Patt (18) modifizierte Rundfiltermethode als die beste erwies. Danach wird das vorbehandelte Papier in einen Exsikkator von 25 cm Durchmesser mit tubuliertem Deckel über den Rand gelegt, wobei darauf zu achten ist, daß das Papier waagerecht liegt, da man sonst statt Kreisen Ellipsen bekommt. Die Zuführung der organischen Substanz geschieht durch einen Tropftrichter oder, besser durch ein Tropfrohr, das die Ausbreitungsgeschwindigkeit automatisch regelt. Auf dem Boden des Exsikkators befinden sich in kleinen Schälchen die beiden Lösungsmittel. Als Papiersorten wurden als geeignet erprobt verschiedene Filterpapiere der Firma Schleicher & Schüll, 2043a und b und 2045, wobei sich die Erfahrung ergab, daß Papiere mit glatter Oberfläche solchen mit rauher überlegen sind. Das Auftragen der Substanz geschieht in konzentrierter Lösung auf das mit der wässrigen Phase besprühte Papier. Nach beendigter Entwicklung wird das Papier aus dem Exsikkator genommen und in waagerechter Lage an der Luft getrocknet.

Bei den Versuchen mit Mono-, Di- und Trioxynaphtochinon zeigte es sich, daß hier die Ringchromatographie eine Möglichkeit bietet, die verschieden substituierten Substanzen durch Farbe und RF Wert sofort zu unterscheiden.

Ein Ätherpufferverteilungssystem, wie bei der Gegenstromverteilung für das Aspergillorubin angewandt worden war, erwies sich als ungünstig für die Ringchromatographie. Zwar kannte man die Anwendung eines mit Pufferlösung getränkten Papieres nach G o d a l l und L e v y (19), aber Äther als zweite Phase war ungeeignet. Hier bewährte sich Dibutyläther als organische Phase.

Als Beispiel eines Oxynaphtochinons mit einer OH Gruppe wurde Juglon (I) zur Entwicklung eines Chromatogramms herangezogen. Eine konzentrierte Lösung von Juglon in Aceton wurde auf das mit Pufferlösung besprühte Papier aufgetragen und zwei Stunden mit Dibutyläther entwickelt. Es hatte sich ein g e l b b r a u n e r Ring im Abstand von 7 cm gebildet.

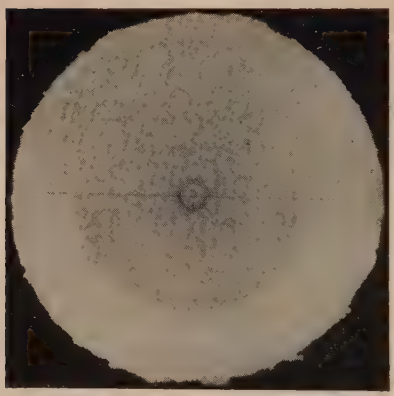


I Juglon
Papier 2043 b
Dibutylätherpufferlösung P_H 6,1

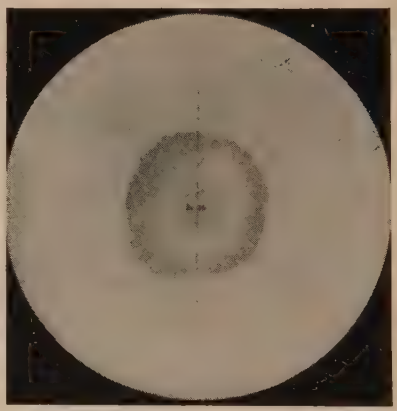
Ein Mischchromatogramm mit Aspergillorubin ergab zwei scharfgetrennte Zonen. Der RF Wert des Juglons, das eine gelbe Zone bildete, war dreimal so groß wie der des Aspergillorubins, dessen Zone einen rötlichen Farbton aufwies.

Das Ringchromatogramm der Substanzen mit 2 OH Gruppen bot ein völlig anderes Bild. Naphtazarin (II) bildete, wie das Isonaphtazarin (III), keine scharfe Zone. Sie liefen beide mit h e l l v i o l e t t e r Farbe nur unterschieden durch Farbintensität und RF Wert.

Überraschend war das Bild des Ringchromatogramms der Substanzen mit 3 OH Gruppen, dem Aspergillorubin (IV) und dem Naphtapurpurin (V). Schon kurz nach dem Auftragen der konzentrierten Lösungen der Farbstoffe in Aceton konnte kein Unterschied in der Laufzeit der Substanzen beobachtet werden. Der RF Wert blieb auch gleich, wenn der Versuch über Stunden lief. Der Farbton war sowohl beim Aspergillorubin wie beim Naphtopurpurin ein gelbroter.



II Naphtazarin - III Isonaphtazarin



IV Aspergillorubin - V Naphtopurpurin

Papier 2043b

Dibutyläther/Pufferlösung P_H 6,1

Diese Versuche tragen nur einen orientierenden Charakter. Um die Methode zum eindeutigen Nachweis für die Zahl der Substituenten der Oxynaphtochinone heranzuziehen, bedarf es einer systematischen Durchführung von Reihenversuchen für die Verteilungssysteme.

3) Redoxpotentialmessungen.

Zur Charakterisierung eines Naphtochinons gehört die Messung eines Redoxpotentials. Bei der Durchsicht der Literatur (27) war mir aufgefallen, daß Unstimmigkeiten über die Additivitätsregel von Fieser (28) für die potentialsenkende Wirkung der Oxygruppen herrschen und viele Autoren geben an, daß man über die gemessener Redoxpotentiale keine Aussage machen kann, die über Dimroth's (29) qualitative Feststellung hinausgeht. Dies nachzuprüfen und Angaben über das in der Literatur noch nicht bekannte 2-, 3-, 5-Trioxynaphtochinon veranlaßte mich, Redoxpotentialmessungen durchzuführen.

Nach Michaelis bezeichnet man das Potential, welches eine Mischung von gleichen Teilen reduzierter und oxydierter Stufe eines umkehrbar hydrierdehydrierbaren Stoffes einer blanken Platinelektrode gegenüber der Normalwasserstoffelektrode erteilt, als Normal-Redoxpotential.

Die Chinone sind Stoffe, die in oxydierter Form eine chinoide, in reduzierter Form eine benzoide Struktur besitzen, die reversibel ineinander übergeführt werden können. Solche reversiblen Vorgänge erteilen der blanken Platinelektrode ein definiertes Redoxpotential. Die Substitution mit Alkyl-, Hydroxyl- und Alkoxylgruppen führt zu einer Erniedrigung des Potentialwertes der Stammverbindungen. Je mehr Substituenten vorhanden sind, umsomehr verschiebt sich das Potential nach der Seite negativer Werte. Fieser (28) gibt z. B. folgende Werte der potentialsenkenden Wirkung an:

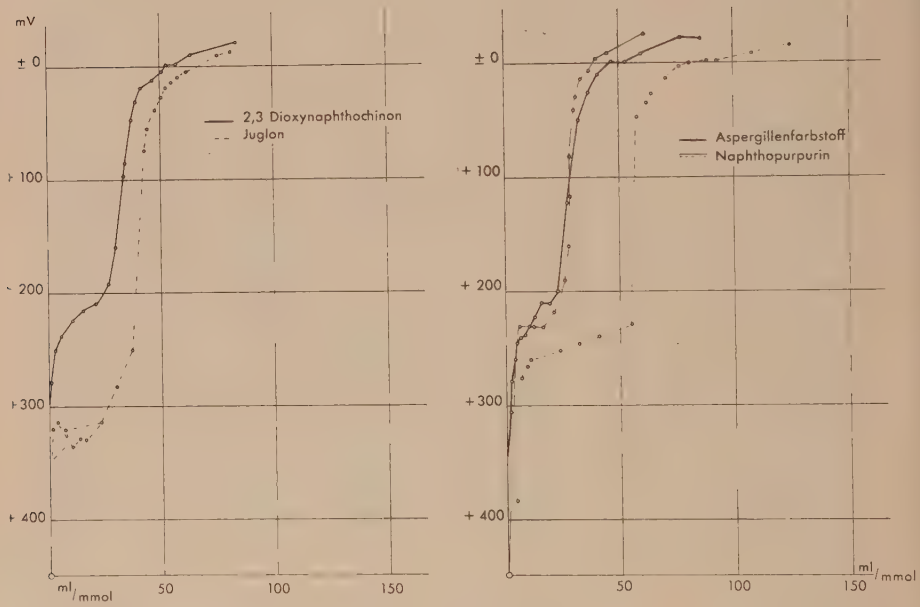
2—OH = — 126 mV
5—OH = — 38 mV

Naphtochinon E_0 = 488 mV

Theoretisch müßte, um ein Beispiel anzuführen, nach der Additivitätsregel der E_0 Wert von 2,3-Dioxynaphtochinon
488 — 256 = 232 sein.

Es wird bei Fieser ein viel niederer Betrag (200) gefunden und damit eine wesentliche Abweichung von der Additivitätsregel beim Isonaphtazarin bestätigt. Eigene Untersuchungen ergaben für diese Substanz einen Wert von 210 mV. Ebenso bildet das Naphtazarin mit seiner 5,8—OH Stellung eine Ausnahme. Die Fieser'sche Addi-

tivitätsregel kann demnach bei den Substanzen Naphtopurpurin (2, **5**, **8**-Trioxynaphtochinon) und **2**, **3**, 5-Trioxynaphtochinon auch nicht gültig sein. Dagegen kann die qualitative Regel D i m r o t h ' s , daß die 3 OH Gruppen den E_0 Wert der Stammverbindung um denselben Betrag senken, voll bestätigt werden. Ich fand eine potentialsenkende Wirkung von 258 mV für beide Substanzen, so daß der E_0 Wert für Aspergillorubin sowohl als für Naphtopurpurin 230 mV beträgt. Messungen mit anderen Oxynaphtochinonen brachten dieselben Ergebnisse.



Redoxpotentialmessungen

Für die Messungen baute ich mir eine ähnliche Apparatur, wie sie W a l l e n f e l s und M ö h l e (27) für ihre Messungen verwandten.

Da das Redoxsystem der Naphtochinone sich bei Gegenwart von Luft ändert, also die Messung in inerter Gasatmosphäre stattfinden muß, muß für eine sorgfältige Reinigung des Stickstoffs gesorgt werden.

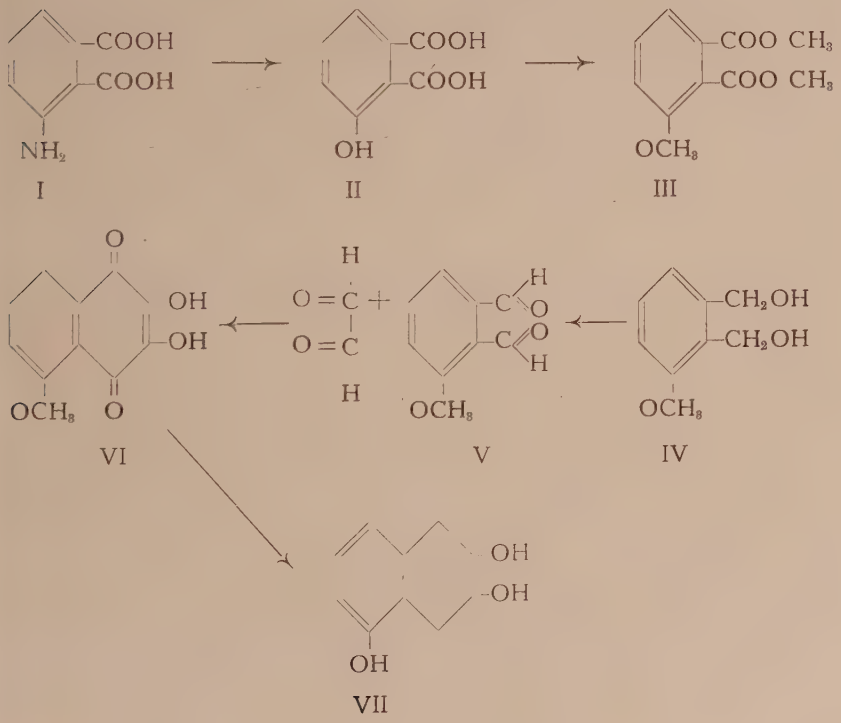
Der gereinigte Stickstoff wird in den Hauptteil der Apparatur, ein Titriergefäß mit 6 Öffnungen (1. Gaseintritt, 2. Gasaustritt, 3. Thermometer, 4. Bürette, 5. Platinelektrode, 6. Agarbrücke) geleitet. Die Agarbrücke führt zu einer Kalomelelektrode, um die Meßkette — blanke Platinelektrode — Redoxsystem — gesättigte KCl Lösung — gesättigte Kalomelelektrode — zu schließen. Die Kalomelelektrode und die Platinelektrode sind verbunden mit einem Radiometer, auf dessen Millivoltskala während der Reaktion das jeweilige Potential abgelesen wird.

Die Reaktion findet statt, wenn aus der Bürette tropfenweise Titantrichloridlösung der Eisessiglösung der Substanz zugefügt wird. Die Reaktion, äußerlich sichtbar an der Grünfärbung der Lösung, wird sofort als Potentialgefälle auf der Meßskala angezeigt.

Apparatur zur Redoxpotentialmessung

E. SYNTHESE DES 2, 3, 5-TRIOXYNAPHTOCHINONS

Nachdem die Konstitutionsermittlung des Aspergillorubin wie beschrieben gelungen war, erschien es reizvoll, auch die Synthese durchzuführen. Erstaunlicherweise ist nämlich eine Synthese dieses verhältnismäßig einfachen Körpers bisher noch nicht bekannt geworden. Erst die Arbeiten von W e y g a n d (20) haben — durch die Kondensation von Dialdehyden mit Glyoxal — einen gangbaren Weg in die Reihe der 2, 3-Dioxynaphtochinone geschaffen. Im Anschluß an diese Arbeiten versuchte ich die Synthese des Aspergillorubins zu verwirklichen. Schon W e y g a n d wies auf die Schwierigkeiten hin, die sich bei der Darstellung von o-oxy- und methoxygruppenhaltigen Dialdehyden ergeben. Es war daher von vornherein zu überlegen, wie diesen Schwierigkeiten beizukommen wäre. Die Stufen desjenigen Synthesewegs, der schließlich beschritten wurde, seien kurz skizziert.



Darstellung der 3-Oxyphtalsäure. (II)

Die Darstellung des Ausgangsproduktes, der 3-Aminophtalsäure, erfolgte durch Nitrierung von Phtalsäureanhydrid und anschließender Reduktion der Nitrogruppe zur Aminogruppe mit Zinkstaub in Eisessig. Man erhielt eine Ausbeute von 11% der Theorie.

Die Diazotierung und Verkochung der 3-Aminophtalsäure zur 3-Oxyphtalsäure wurde unter den verschiedensten Bedingungen durchgeführt. Nach einer Vorschrift von King (21) wurde die Substanz in Wasser gelöst, wenig Schwefelsäure hinzugegeben, mit Natriumnitrit diazotiert und das Diazotat langsam unter Rühren in kochende Kupfersulfatlösung gegeben. Diese Methode führte nur zu einem öligen Produkt, außerdem war die Ausbeute sehr gering. Die Durchführung der Diazotierung in einer Eisessiglösung brachte zwar bessere Ausbeuten an Diazotat, aber der Eisessig ließ sich schwer entfernen. Die besten Ausbeuten an 3-Oxyphtalsäure erzielte man nach einer Variierung einer Darstellungsvorschrift von Corbellini (22). Löste man die 3-Aminophtalsäure zum Diazotieren in konzentrierter Schwefelsäure und diazotierte bei einer Temperatur um 0° und verkochte das Diazotat nach Zugabe von Wasser auf dem Wasserbade, so erhielt man ein farbloses kristallines Produkt in 60%iger Ausbeute. Der Schmelzpunkt der aus Toluol umkristallisierten Säure betrug 174°.

Darstellung des 3-Methoxyphtalsäuredimethylesters. (III)

Zunächst wurde versucht, die 3-Oxyphtalsäure, analog einer Vorschrift von Zincke (23), zur Darstellung der 3-Methoxybenzoesäure mit Dimethylsulfat zu methylieren. Zunächst wurde die Methylierung in NaOH bei Zimmertemperatur durchgeführt und anschließend das Reaktionsgemisch am Rückfluß gekocht, später erfolgte die Zugabe von Dimethylsulfat zur alkalischen Lösung unter Kühlung; immer war das Endprodukt eine sehr schön in farblosen Nadeln kristallisierende Substanz mit einem Schmelzpunkt von 105°, die sich nach Analyse und Schmelzpunkt mit der Methoxybenzoesäure als identisch

erwies. Die Oxyphtalsäure war demnach in dem stark alkalischen Medium dekarboxyliert. Methylierungen der 3-Oxyphtalsäure oder ihres Anhydrids mit Diazomethan führten zwar zu einer kristallisierten 3-Methoxyphtalsäure, bzw. zu ihrem Anhydrid, konnten jedoch nur in kleinen Mengen durchgeführt werden, und die Ausbeuten waren gering.

Wenn es gelang, aus der 3-Oxyphtalsäure direkt den 3-Methoxyphtalsäuredimethylester herzustellen, so konnte nicht nur eine Stufe des Syntheseweges übersprungen werden, sondern man erhielt in dem Ester zugleich ein günstiges Ausgangsprodukt zur Darstellung des gesuchten 3-Methoxyphtaldialkohols.

Das Kaliumsalz der 3-Oxyphtalsäure, dargestellt durch Eindampfen der wässrigen Lösung auf dem Wasserbade nach Zugabe eines Überschusses von Kaliumkarbonat, wurde gut getrocknet, fein gepulvert und in Aceton suspendiert. Im Laufe von 3 Stunden, unter Erwärmen am Rückflußkühler, wurde in kleinen Portionen Dimethylsulfat zugegeben; die Reaktion konnte verfolgt werden durch die langsame Gelbfärbung der Lösung. Um aus dieser Reaktion ein kristallisiertes Produkt zu erhalten, mußte das überschüssige Dimethylsulfat sorgfältig im Hochvacuum entfernt und der ölige Rückstand zur Reinigung an Aluminiumoxyd chromatographiert werden. Das Benzoleluat lieferte nach dem Eindampfen einen hellgelben Rückstand, der — aus Äther/Petroläther umkristallisiert — nach 24-stündigem Stehen im Eisschrank hellgelbe Kristalle — Säulen zu Drusen zusammengewachsen — vom Schmelzpunkt 76° lieferte. Ausbeute 80% der Theorie.

Darstellung des 3-Methoxyphtaldialkohols. (IV)

Bei der Darstellung des 3-Methoxyphtalsäuredimethylesters wurde schon erwähnt, daß dieser ein günstigeres Ausgangsprodukt für die Reduktion zum 3-Methoxyphtaldialkohol war als die Säure oder ihr Anhydrid. Die Reduktionsversuche der 3-Methoxyphtalsäure und ihres Anhydrids bestätigten diese Annahme. Sie führten nur zu einem öligen Endprodukt, das sich nicht kristallisieren ließ. Die Wahl des Reduktionsmittels war nach den sehr guten Ausbeuten, die Nystrom

(24) bei der Reduktion von Phtalsäureanhydrid mit $LiAlH_4$ erzielte, nicht schwer. Schwieriger war es, ein gutes $LiAlH_4$ Produkt zu finden. Die angebotenen deutschen Produkte sind recht grobkörnig und waren für den gesetzten Zweck daher ungeeignet. Schließlich wandte ich, und mit bestem Erfolg, eine fertige ätherische Lösung von $LiAlH_4$ (Riedel de Haën) an. Wurde diese Lösung von $LiAlH_4$ in Äther im Kolben vorgelegt und die ätherische Lösung von 3-Methoxyphtalsäuredimethylester langsam, unter Rühren, im erwärmten Wasserbad zugefügt, so bildete sich im Laufe mehrerer Stunden eine hellgelbe Additionsverbindung. Nach ihrer Zersetzung mit Eis und Extraktion der angesäuerten Lösung mit Äther lieferte die Ätherfraktion nach dem Eindampfen einen farblosen Rückstand, der sofort über die ganze Kolbenwand hin strahlenförmig in Nadeln kristallisierte. Nach dem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther betrug der Schmelzpunkt 94°. Ausbeute 65% der Theorie.

Auf diesem Wege wurde also der in der Literatur noch nicht bekannte 3-Methoxyphtaldialkohol dargestellt.

Darstellung des 3-Methoxyphtaldialdehyds. (V)

Das schwierigste Problem der Synthese war, geeignete Bedingungen und ein geeignetes Oxydationsmittel für die Oxydation des 3-Methoxyphtaldialkohols (IV) zum 3-Methoxyphtaldialdehyd (V) zu finden.

Wertvolle Anhaltspunkte gaben zunächst die Arbeiten von Weygand (25). Weygand oxydiert den unsubstituierten Phtaldialkohol in kleinen Portionen mit Selendioxyd und erhält zunächst den Selenigsäureester, den er durch Erhitzen zersetzt. Die Ausbeuten an Phtaldialdehyd sind gering. Es war zu erwarten, daß nach diesen Erfahrungen ein o-substituierter Phtaldialdehyd wesentlich schwerer darzustellen sei. Doch wurde zunächst versucht, analog der Weygand'schen Vorschrift vorzugehen. Ob ich die Substanz in kleinen Portionen mit Selendioxyd oxydierte, ob ich das Reaktionsprodukt langsam oder schnell durch Erhitzen zersetzte, fast immer erhielt ich nur negative Ergebnisse, d. h., nur in einem Falle konnte durch die Farbreaktion eine Kondensation zum Chinon nachgewiesen werden.

Damit war wenigstens gezeigt, daß die Oxydation im Prinzip möglich war. Versuche, die Oxydation mit Salpetersäure oder nach Oppenauer durchzuführen, ergaben nur dunkelfarbige ölige Produkte, die nicht weiter verarbeitet werden konnten.

Ausschlaggebend für die weiteren Oxydationsversuche waren die Arbeiten von Attenburrow (26) über Vitamin A, bei denen Oxydationen parallel nach Oppenauer und mit aktiviertem Mangandioxyd durchgeführt worden sind.

Es wurde aktiviertes Mangandioxyd dargestellt und damit, nach diesen Vorschriften, versucht, den 3-Methoxyphtaldialkohol (IV) zum 3-Methoxyphtaldialdehyd (V) zu oxydieren. Die Versuchsbedingungen waren so, daß die Oxydation in Tetrachlorkohlenstoff verlaufen sollte. Zunächst wurde die Substanz mit Mangandioxyd bei Zimmertemperatur in Tetrachlorkohlenstoff einige Stunden gerührt; sie blieb unverändert. Dann wurde die Temperatur erhöht, und das Reaktionsgemisch unter gelinder Erwärmung im Wasserbade gerührt. Hier, wie auch bei weiterem Steigern der Temperatur, erwies sich das Endprodukt als Ausgangsmaterial. Schuf ich jedoch dieselben Bedingungen, wie sie die Oxydation mit Selendioxyd vorschreibt, nämlich das trockene Erhitzen der Substanzen im Reagenzglas, so führte die Oxydation zu einem positiven Ergebnis.

Der 3-Methoxyphtaldialkohol wurde mit einem Überschuß von aktivem Mangandioxyd innig verrieben und in kleinen Portionen langsam oxydiert. Der bei etwa 160^0 entstehende Aldehyd kristallisierte in feinsten farblosen Nädelchen vom Schmelzpunkt 98^0. Die Ausbeute war gering.

Kondensation des 3-Methoxyphtaldialdehyds (V) mit Glyoxal zum 2,3 Dioxy- 5-Methoxynaphtochinon.

Nach Weygand kann die Kondensation des Phtalaldehyds mit Glyoxal zum Naphtochinon in ihrer Eigenschaft als Farbreaktion schon zum Nachweis des Aldehyds dienen.

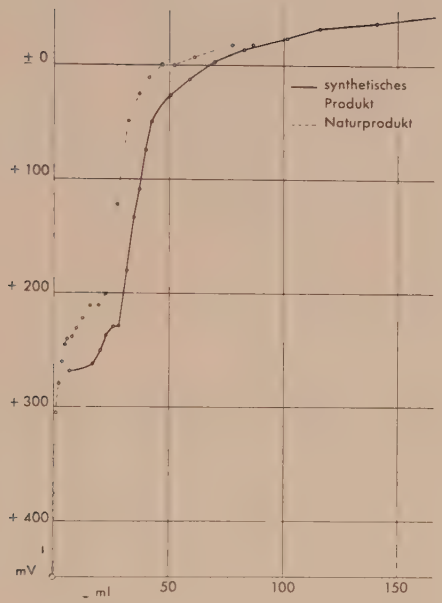
Dieser Nachweis wurde für den 3-Methoxyphtaldialdehyd (V) durch seine Kondensation mit Glyoxal zum 2,3 Dioxy- 5-Methoxynaphtochinon erbracht. Schon beim Zusammenfügen der frisch zubereiteten Glyoxallösung mit der Dioxanlösung des Aldehyds färbte sich die Lösung blauviolett. Der Farbton vertiefte sich noch nach 10minutigem Schütteln an der Luft. Aus der vorsichtig angesäuerten Lösung konnte der Farbstoff mit Äther extrahiert werden; als Rückstand des Ätherextraktes verblieb ein rötliches Öl, aus dem sich langsam rote Nadeln abschieden. Ausbeute etwa 10 mg.

Entmethylierung des 2,3 Dioxy- 5-Methoxynaphtochinons zum 2,3,5,-Trioxynaphtochinon (VII).

Die Entmethylierung wurde in Eisessig mit konzentriertem HBr durchgeführt. Die sich in einem Bombenrohr befindende Lösung wurde so lange im Wasserbad erhitzt, bis die anfänglich gelbe Lösung sich tief violett färbte. Das 2,3,5-Trioxynaphtochinon kristallisierte als Rückstand des Ätherextrakts in roten Nadeln, die bis 360^0 keinen Schmelzpunkt hatten. Zur Reinigung wurde das Produkt an einer Gipssäule mit Chloroform chromatographiert und zum Vergleich eine ebensolche Säule mit dem natürlichen Produkt (Aspergillorubin) angesetzt. In Farbe und Laufzeit war kein Unterschied zu beobachten. Aus dem Rückstand der Chloroformlösung kristallisierten rote Nadeln, die wiederum keinen Schmelzpunkt bis 360^0 hatten.

Messungen des Redoxpotentials des 2,3,5-Trioxynaphtochinon.

Nach den Erfahrungen bei den Messungen der Redoxpotentiale von Naphtopurpurin und Aspergillorubin mußte das synthetische Produkt dieselben Werte wie Naphtopurpurin ergeben und so die Identität des synthetischen mit dem natürlichen Produkt beweisen. Wie aus der nachstehenden Kurve zu ersehen ist, stimmen die Werte überein. Das natürliche Produkt ergibt wie das synthetische einen E_0 Wert von 230 mV.



Redoxpotentialmessungen des natürlichen und synthetischen 2-, 3-, 5 - Trioxynaphtochinons

Um größere Ausbeuten an 2,3,5-Trioxynaphtochinon zu erhalten und damit auch mehr Vergleichsmöglichkeiten mit dem natürlichen Produkt zu haben, müssen einige Schwierigkeiten bei der Darstellung des synthetischen Produktes behoben werden. Es müssen systematisch Oxydationsmittel erprobt und Oxydationsbedingungen gefunden werden, unter denen eine größere Ausbeute an 3-Methoxyphtaldialdehyd (V) aus dem 3-Methoxyphtaldialkohol (IV) erreicht wird. Vielleicht wird man einen anderen Weg zur Darstellung des Aldehyds einschlagen müssen. Auch hier können die Arbeiten von W e y g a n d und T i e t j e n (25) über die Darstellung des o-Phtalaldehyds aus o-Phtalsäure- bis -dimethylamid oder o-Phtalsäuredipiperidid wegweisend sein.

Zusammenfassung

Aus der Kulturlösung eines *Aspergillus niger* Stammes wurde ein roter Farbstoff, Aspergillorubin, isoliert und rein dargestellt. An Hand von Derivaten und Abbauprodukten des Aspergillorubins wurde die Struktur eines 2,3,5-Trioxynaphtochinons ermittelt. Durch Studien an Spektren, Ringchromatogrammen und Redoxpotentialmessungen konnten die Methoden der Konstitutionsermittlung von Oxynaphtochinonen erweitert werden. Schließlich wurde die Synthese des 2,3,5-Trioxynaphtochinons durchgeführt.

EXPERIMENTELLER TEIL

Zinkstaubdestillation.

1 g Farbstoff wurde mit 15 g reinstem Zinkstaub vermischt und in kleinsten Portionen destilliert. Es bildete sich ein gelbliches Öl, aus dem sich nach einiger Zeit farblose Plättchen abschieden. Schmp. 78°. Der Mischschmelzpunkt mit Naphtalin ergab keine Depression. Ebenso erhielt man bei einem Mischschmelzpunkt des Pikrats (Schmelzpunkt 140°) mit dem Naphtalinpikrat keine Depression.

Darstellung des Triacetats.

a) mit Acetylchlorid.

Einer Lösung von 70 mg Aspergillorubin in 5 ccm absolutem Pyridin wurden, unter Kühlung, unter Luftausschluß 2 ccm reinstes Acetylchlorid zugegeben. Das Gemisch blieb 24 Stunden bei Zimmertemperatur verschlossen stehen. Nach dieser Zeit hatte sich die Lösung dunkel gefärbt. Sie wurde in Wasser gegossen, wobei sich ein farbloser Niederschlag bildete, der abzentrifugiert und im Exsikkator getrocknet wurde. Das Produkt wurde dann in Benzol gelöst und an Gips chromatographiert. Die Eluate ergaben nach dem Eindampfen nur Öl als Rückstand.

b) mit Acetanhydrid.

70 mg des Farbstoffs wurden in Acetanhydrid gelöst und bei Zimmertemperatur mit Schwefelsäure acetyliert. Nach beendigter Reaktion

wurde das Gemisch in Wasser gegossen, abfiltriert und der Rückstand getrocknet. Die Umkristallisation aus Essigester ergab hellgelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 154°. Ausbeute 30% der Theorie.

Analyse:

$C_{16}H_{12}O_8$	(333.38)	Ber.	C 59.6	H 2.72	$3CH_3CO$	39.75
		Gef.	C 57.95	H 3.91		38.7

Reduzierende Acetylierung.

Einer Lösung von 100 mg Aspergillorubin in 1,5 ccm Essigsäureanhydrid (destilliert über Natrium) wurden 100 mg wasserfreies Natriumacetat zugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde im Ölbad am Rückfluß so lange erwärmt, bis die Lösung eine dunkle Färbung annahm, d. h., bis sie durchacetyliert war. Dann gab man reinsten Zinkstaub in kleinsten Portionen dazu, bis die Lösung farblos geworden war. Darauf wurde sie heiß in Wasser von 80—90° gegossen, wobei sich ein farbloser Niederschlag bildete, der abfiltriert und getrocknet wurde. Nach dem Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther erhält man feinste farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 183°. Ausbeute 10% der Theorie.

Analyse:

$C_{20}H_{18}O_{10}$	(419.76)	Ber.	C 57.37	H 4.33	$5CH_3CO$	50.0
		Gef.	C 58.10	H 4.38		50.4

Benzoylierung.

80 mg Aspergillorubin wurden in 2 ccm absolutem Pyridin aufgenommen und unter Luftausschluß 2 ccm Benzoylchlorid zugefügt. Nach kurzem Erwärmen wurde die Lösung bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Beim Gießen in Wasser fiel ein öliges Produkt aus, das nach längerem Stehen im Eisschrank fest wurde. Dieser Rückstand wurde abzentrifugiert und nach dem Trocknen in Benzol aufgenommen und am Gips chromatographiert. Unverbrauchtes Ausgangsmaterial blieb zurück. Das Filtrat wurde bis auf 2 ccm eingeengt und mit Petroläther

versetzt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther erhielt man farblose Kristalle. Ausbeute 20 mg.

Analyse:

$C_{31}H_{18}O_8$	(518.0)	Ber. C 71.81	H 3.47	$3C_6H_5CO$	60.7
		Gef. C 71.42	H 3.73		57.0

DEHYDRIERUNG VON ASPERGILLORUBIN

VORVERSUCH

Dehydrierung von 2,3 Dioxynaphtochinon.

1) 50 mg 2,3 Dioxynaphtochinon wurden in 100 ccm absolutem Äther gelöst und 375 mg Ag_2O (nach Willstätter) und 250 mg Natriumsulfat (wasserfrei) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden in der Schüttelmaschine geschüttelt. Nach dem Abfiltrieren der anorganischen Substanzen wurde das Filtrat eingeengt. Der Rückstand erwies sich als Ausgangsmaterial.

2) Einer Lösung von 50 mg 2,3 Dioxynaphtochinon in 100 ccm absolutem Äther wurden 375 mg Silberoxyd (nach Willstätter) und 250 mg Natriumsulfat (wasserfrei) zugefügt. Die Lösung wurde 2 Stunden im Wasserbad am Rückfluß erwärmt. Die zunächst gelbrote Lösung wurde im Verlauf der Reaktion farblos und zeigte eine intensive blauweiße Fluoreszenz.

Hauptversuch.

1) Einer ätherischen (abs.) Lösung von 100 mg Aspergillorubin wurden 500 mg Ag_2O (nach Willstätter) und 500 mg wasserfreies Natriumsulfat zugesetzt. Die anfänglich gelbrote Farbe der Lösung änderte sich nach mehrstündigem Erwärmen am Rückfluß im Wasserbad nicht und der Rückstand des eingedampften Filtrats ergab Ausgangsmaterial.

2) 100 mg Aspergillorubin wurden in 100 ccm absolutem Äther gelöst und 500 mg MnO_2 (aktiviert) und 500 mg wasserfreies Natriumsulfat zugefügt. Die Lösung wurde unter Feuchtigkeitsausschluß 2 Stunden

am Rückfluß erwärmt. Nach dem Filtrieren wurde die entfärbte Lösung vorsichtig eingeengt zur Trockne. Als Rückstand verblieb ein hellgelbes Öl, aus dem sich feine hellgelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 80^0 abschieden. Ausbeute 10 mg. Die Lösung hatte eine intensiv blauweiße Fluoreszenz.

RINGCHROMATOGRAPHIE

1) Ringchromatogramm von Juglon.

Auf dem in der Mitte des Rundfilters gezogenen Kreis (r = 1 cm) wurde eine stark konzentrierte Lösung von Juglon mit einer Kapillare aufgetragen und das Filter gleichmäßig mit Pufferlösung (Sörensen-Phosphatpuffergemisch, P_H 6,1) besprüht. Das Rundfilter wurde in den Exsikkator eingelegt, glatt über den Rand gezogen und der tubulierte Deckel fest daraufgelegt. Durch den Tropftrichter wurde das organische Lösungsmittel (Dibutyläther) zugeführt. Nach 2 Stunden hatte sich eine gelbbraune Zone im Abstand von 5 cm vom Mittelpunkt gebildet. Nun wurde das Papier herausgenommen und in horizontaler Lage an der Luft getrocknet.

2) Ringchromatogramm von Naphtazarin und Isonaphtazarin.

Die Substanzen wurden in gleich konzentrierter acetonischer Lösung in 2 Halbkreisen (r = 1 cm) auf das Papier aufgetragen, das Papier besprüht, in den Exsikkator eingelegt und Dibutyläther langsam zugetropft. Das Naphtazarin verteilte sich sehr schnell mit hellvioletter Farbe über den ganzen Bogen, während das Isonaphtazarin in derselben Zeit eine hellviolette einheitliche Zone im Abstand von 2 cm vom Mittelpunkt bildete. Wie oben wurde das Papier nach 2 Stunden herausgenommen und getrocknet.

3) Ringchromatogramm von Naphtopurpurin und Aspergillorubin.

Gleich konzentrierte Acetonlösungen der beiden Substanzen wurden wie beim Naphtazarin und Isonaphtazarin auf das Papier gebracht und

chromatographiert. Nach 2 Stunden hatte sich bei beiden Substanzen im Abstand von 5 cm vom Mittelpunkt eine gleichmäßige gelbrote Zone gebildet.

ABBAU DES ASPERGILLORUBIN ZUR JUGLONSÄURE

500 mg Aspergillorubin wurden in 10 ccm HNO_3 (Dichte 1,15) aufgenommen und in einem Kölbchen am Rückfluß 10 Stunden erhitzt. Die Reaktion kam unter Gasentwicklung langsam in Gang und die anfänglich braune Lösung war nach beendeter Reaktion hellgelb. Im Kühler setzten sich gelbe harzartige Produkte ab. Diese wurden abfiltriert. Das Filtrat wurde in eine flache Schale gegossen und zur Entfernung der unverbrauchten Salpetersäure einige Zeit im Exsikkator über KOH stehengelassen. Danach wurde die Lösung mehrmals mit Äther extrahiert, der Äther über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeengt. Man erhielt gelbe, sehr hygroskopische Kristalle, die beim Umkristallisieren aus Benzol/Petroläther feine gelbe Nadeln ergaben. Schmelzpunkt 118—119°. Ausbeute 5 mg.

Der Schmelzpunkt der aus Juglon dargestellten Juglonsäure betrug 117°. Der Mischschmelzpunkt aus diesen beiden Substanzen lag bei 117,5°, es ergab also keine Depression.

Ringchromatogramm der beiden Juglonsäuren.

1) Die Substanzen wurden in wenig Aceton gelöst und auf das mit H_2O besprühte Papier (Schleicher & Schüll, 2043a) aufgetragen. Als organische Phase wurde Dibutyläther verwandt. Beide Substanzen liefen ohne Zonenbildung mit gelber Farbe.

2) Die beiden Juglonsäuren, als konzentrierte Mischlösung auf trockenes Papier aufgetragen und mit Dibutyläther entwickelt, erwiesen sich als identisch.

PYROBORACETATREAKTIONEN

a) Spektroskop.

Substanzen: Juglon, Aspergillorubin, Naphtopurpurin. Borsäurelösung für alle Substanzen: 1 g Borsäure wurde in Acetanhydrid (über Natrium destilliert) suspendiert und aufgekocht.

Juglon:

1—2 mg der Substanz wurde in Acetanhydrid (über Natrium destilliert) gelöst und 2 ccm der Borsäurelösung dazugegeben. Es erfolgt Farbvertiefung.

Spektroskopische Messung: Endadsorption und keine Bande
1 Minute gekocht: keine Bande.

Aspergillorubin:

1—2 mg der Substanz wurden in Acetanhydrid gelöst und 2 ccm der Borsäurelösung dazugegeben. Man erhielt sofort eine blutrote Färbung.

Spektroskopische Messung: Endadsorption und keine Bande
1 Minute gekocht: keine Bande (in einem Fall Aufhellung).

Naphtopurpurin:

1—2 mg der Substanz wurden in Acetanhydrid gelöst und 2 ccm der Borsäurelösung dazugegeben. Die Lösung färbte sich blutrot.

Spektroskopische Messung: Banden 581, 551, 534, 509.
1 Minute gekocht: 584.

Pyroboracetatreaktionen.

b) Messung der Absorptionskurven.

Substanzen: Juglon, Aspergillorubin, Naphtopurpurin. Für alle Substanzen: 1 g Borsäure wurde in 10 ccm Acetanhydrid suspen-

diert und aufgekocht. Nach kurzem Kochen trübte sich die Lösung und es bildete sich der Borsäureester. Von dem so bereiteten Reagenz wurden 10 ccm zu der Lösung des jeweiligen Präparates in Acetanhydrid gegeben und es trat sofort Farbvertiefung ein. Zur Aufnahme der Absorptionskurven wurde mit Pyroboracetatlösung bis auf die angegebenen Konzentrationsverhältnisse verdünnt.

Redoxpotentialmessungen.

Zur Messung wurden die Substanzen Juglon, Oxyjuglon, Naphtopurpurin und Aspergillorubin, sowie eine Reihe andere Naphtochinone herangezogen. Es wurde jeweils eine genau gewogene Menge (etwa 5 mg) in 100 ccm Eisessig (Merck reinst) gelöst in das Titriergefäß eingetragen und danach die ganze Apparatur sorgfältig abgedichtet und mit gereinigtem Stickstoff gefüllt. Sodann ließ man mit dem Gasdruck die Titantrichloridlösung aus dem Vorratsgefäß in die Bürette steigen. Unter starkem Durchperlen von Stickstoff durch das Titriergefäß wurde die titrierte Lösung gut mit der Chinonlösung vermischt und man bekam unmittelbar nach dem Eintropfen der Titantrichloridlösung einen Ausschlag auf der Meßskala.

C. SYNTHESE DES 2,3,5 TRIOXYNAPHTOCHINONS

1) Darstellung der 3-Aminophtalsäure.

500 g Phtalsäureanhydrid wurden in 600 ccm konz. H_2SO_4 eingetragen. Das Reaktionsgemisch wurde kräftig gerührt. Nach 30 Minuten ergab sich eine klare Lösung. Diese Lösung wurde im Wasserbad auf 80^0 erwärmt. Dann wurden langsam 200 ccm rauchende HNO_3 zugetropft (Dauer ungefähr 2 Std.; es ist zu beachten, daß die Temperatur 110^0 nicht überschreitet). Dabei zeigte sich eine starke Entwicklung nitroser Gase. Danach wurden 900 ccm konz. HNO_3 schnell zugefügt (Temperatur dabei um 100^0). Das Reaktionsgemisch wurde weitere 2 Stunden im siedenden Wasserbad gerührt. Die Lösung trübte sich bald und

schied einen schwachgelben, feinkristallinen Niederschlag ab. Das Gemisch wurde in 1,5 Liter kaltes Wasser gegossen. Der Niederschlag, bestehend aus 3- und 4-Nitrophtalsäure, wurde abgesaugt und noch feucht mit 200 ccm kaltem Wasser verrührt. Dabei ging der größte Teil der 4-Nitrophtalsäure in Lösung. Der restliche Kristallbrei wurde durch Aufkochen mit 300 ccm Wasser gelöst, heiß filtriert und über Nacht stehen gelassen; danach wurde er abgesaugt und mit etwas kaltem Wasser gewaschen.

Ausbeute: 257 g.

30 g der Nitroverbindung wurden in 300 g 20%iger Essigsäure suspendiert und langsam unter heftigem Rühren mit Zinkstaub versetzt (die Temperatur darf dabei 20^0 nicht übersteigen). Die Nitrophtalsäure ging unter rotbrauner Färbung in Lösung. Nach geraumer Zeit schied sich 3-Aminophtalsäure in voluminösen Flocken ab. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit wenig Eiswasser nachgewaschen. Man erhielt eine farblose, feinkristalline Substanz.

Ausbeute: 15 g.

2) Darstellung von 3-Oxyphtalsäure.

a) 5 g 3-Aminophtalsäure wurden in 30 ccm H_2O und 5 ccm H_2SO_4 gelöst und unter Rühren eine Lösung von 1,5 g $NaNO_2$ tropfenweise hinzugegeben (die Temperatur darf dabei 0^0 nicht überschreiten). Nach Verlauf von 2 Stunden wurde dieses Diazotat unter Rühren in eine kochende Kupfersulfatlösung gegeben. Nach dem Erkalten wurde vom Kupfersalz abgegossen, die Lösung mehrfach mit Äther ausgeschüttelt und der Äther vollständig verdampft. Es verblieb ein öliger Rückstand.

Sehr geringe Ausbeute.

b) 5 g 3-Aminophtalsäure wurden in 50 ccm konz. H_2SO_4 suspendiert und (wie sub a) mit 1,5 g $NaNO_2$ in 50 ccm H_2O diazotiert. Nach Verlauf von 2 Stunden wurde H_2O zugegeben und das ganze auf dem Wasserbad verkocht bis zum Ende der Gasentwicklung. Die bräunliche Lösung wurde nach dem Erkalten mehrfach mit Äther extrahiert,

die ätherischen Fraktionen mit Tierkohle filtriert und der Äther vollständig verdampft. Der ölige Rückstand kristallisierte über Nacht.

Ausbeute: 60% der Theorie.

Analyse:

$C_8H_6O_5$	(182.0)	Ber.	C 58.50	H 3.3
		Gef.	C 58.50	3.07

3) Darstellung von 3-Methoxyphtalsäure-dimethylester.

1. 3,6 g 3-Oxyphtalsäure wurden in wenig Methanol gelöst und unter Eiskühlung 3 Mol KOH in Methanol langsam hinzugegeben. (Man muß dabei darauf achten, daß die Temperatur nur allmählich ansteigt, da man sonst ein harziges Produkt erhält, das sich nicht mehr weiter verarbeiten läßt.) Die Lösung wurde unter vermindertem Druck dann eingedampft und der trockene Rückstand schließlich im Mörser verrieben.

2. 2 g 3-Oxyphtalsäure wurden in wenig Wasser gelöst und mit einem Überschuß Kaliumkarbonat versetzt. Die Lösung wurde auf dem Wasserbad eingedampft und das Salz fein gepulvert. Dieses Produkt wurde in Aceton suspendiert und 3 Stunden am Rückflußkühler erwärmt. In kleinen Mengen wurden währenddessen 3 Mol Dimethylsulfat dazugegeben. Das zunächst farblose Aceton färbte sich langsam gelb. Nach der Reaktion wurde abfiltriert und die Lösung unter vermindertem Druck eingedampft. Es blieb ein gelblicher öliger Rückstand. Zur Kristallisation wurde dieser in Benzol aufgenommen und an einer Säule aus Aluminiumoxyd chromatographiert. Das Benzoleluat wurde erneut zur Trockne eingeengt; der Rückstand wurde in Äther gelöst und mit Petroläther versetzt. So erhielt man nach 24stündigem Stehen im Eisschrank schwachgelbe Kristalle vom Schmelzpunkt 76°.

Ausbeute: 80% der Theorie.

Analyse:

$C_{11}O_5H_{12}$	(224.07)	Ber.	C 58.90	H 5.3
		Gef.	C 58.92	H 5.52
			CH_3CO	41.5
			CH_3CO	40.67

4) MODELLVERSUCHE ZUR DARSTELLUNG DES 3-METHOXYPHTALDIALKOHOLS

a) Reduktion von Phtalsäureanhydrid zu Phtaldialkohol mit $LiAlH_4$.

In einem 1-Liter-Kolben wurde eine Lösung von 1,5 g $LiAlH_4$ in 200 ccm absolutem Äther angesetzt. Dazu wurde in einem Schliff-tropftrichter unter Rühren im Laufe von 3 Stunden eine Lösung von 5 g Phtalsäureanhydrid in Äther gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde einige Stunden im Wasserbad erwärmt. Das unverbrauchte Hydrid wurde nach dem Abkühlen durch tropfenweise Zugabe von Wasser unter Kühlung zersetzt. Die Mischung wurde dann in Eiswasser gegossen und mit 10%iger H_2SO_4 angesäuert. Danach wurde nochmals mit Äther extrahiert. Als der Äther abgedampft war, blieb ein hellgelbes Produkt, das man zweimal mit heißem Petroläther wusch. Der Rückstand wurde in wenig Äther aufgenommen und mit Petroläther versetzt. Es bildeten sich farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 64°.

Ausbeute: 87% der Theorie.

b) Reduktion von Phtalsäurediäthylester mit $LiAlH_4$.

In die ätherische Lösung von $LiAlH_4$ (3 Mol in 200 ccm) wurde unter Rühren eine Lösung von 5 g Phtalsäurediäthylester in Äther tropfenweise zugefügt. Es bildete sich eine gelbliche Additionsverbindung, die auf Eis gegossen wurde, nachdem die Zersetzung des unverbrauchten $LiAlH_4$ unter Kühlung erfolgt war. Nach dem Ansäuern mit 10%iger H_2SO_4 wurde die Lösung 3—5 mal mit Äther extrahiert, die vereinigten Ätherfraktionen eingeengt und der Rückstand aus Äther/Petroläther umkristallisiert. Man erhielt in guter Ausbeute farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 64°.

2) Reduktion von 3-Methoxyphtalsäureanhydrid zu 3-Methoxyphtaldialkohol mit $LiAlH_4$.

6,9 g 3-Methoxyphtalsäureanhydrid wurden in die Extraktionshülse einer Soxhletapparatur eingetragen. Im Kolben befand sich eine Lö-

sung von 1,8 g $LiAlH_4$ in Äther. Beim Erwärmen des Kolbens im Wasserbad wurde durch den siedenden Äther die Substanz langsam aus der Hülse eluiert. Nach Beendigung der Elution wurde das restliche $LiAlH_4$ zersetzt, das Reaktionsgemisch auf Eis gegossen, mit 10%iger H_2SO_4 angesäuert und die Lösung mehrmals mit Äther geschüttelt. Nach dem Abdampfen des Äthers erhielt man einen dunkelbraunen Rückstand, der sich nicht kristallisieren ließ.

Reduktion von 3-Methoxyphtalsäuredimethylester zu 3-Methoxyphtaldialkohol mit $LiAlH_4$.

Man löste 1,5 g 3-Methoxyphtalsäuredimethylester (Schmp. 76°) in 100 ccm absolutem Äther und ließ diese Lösung unter ständigem Rühren langsam in eine 3 Mol $LiAlH_4$ enthaltende Ätherlösung eintropfen. (Verwendet wurde eine im Handel erhältliche 1,9 molare $LiAlH_4$-Lösung von R. de Haën.) Im Laufe von 4 Stunden bildete sich beim Erwärmen im Wasserbade eine farblose Additionsverbindung, die man nach dem Zutropfen von Wasser auf Eis goß und ansäuerte, wobei die Lösung weiterhin farblos blieb. Man extrahierte sie nun 4—5 mal mit Äther und dampfte die Ätherfraktionen ein. Es bildeten sich sofort farblose Kristalle, die sich strahlenförmig über den ganzen Kolben ausbreiteten. Nach dem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther lag der Schmelzpunkt bei 94°.

Ausbeute: 65% der Theorie.

Analyse:

$C_9H_{12}O_3$ (168.06) Ber. C 64.29 H 7.14 OCH_3 18.4
Gef. C 64.35 H 7.60 OCH_3 17.1

Oxydation des 3-Methoxyphtaldialkohols zum 3-Methoxyphtaldialdehyd.

a) mit HNO_3.

1,1 g Phtaldialkohol wurden in 25 ccm Wasser suspendiert und mit 7 ccm konz. HNO_3 versetzt, die Lösung 3 Stunden am Rückfluß erhitzt. Die Lösung entfärbte sich langsam unter NO_2-Entwicklung. Nach dem

Abkühlen wurde mit Essigester ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und zur Trockne eingeengt. Als Rückstand erhielt man ein gelbliches Öl, das keine Chinonreaktion ergab.

b) mit SeO_2.

Ein inniges Gemisch von 100 mg Phtaldialkohol und 130 mg SeO_2 wurde auf 10 Reagenzgläser verteilt und langsam im Paraffinbad erhitzt. Bei etwa 60^0 schmolzen die Substanzen zusammen. Die Temperatur wurde auf 120^0 erhöht, hierbei schlägt sich Wasser an den Reagenzglaswänden nieder. Dann wurde die Temperatur bis 160^0 gesteigert und eine halbe Stunde lang beibehalten. Danach wurde das Paraffinbad entfernt und die Substanz über kleiner Flamme zersetzt. Der Aldehyd kristallisierte in feinsten farblosen Nädelchen oberhalb des Reaktionsgemisches an den Wänden.

Ausbeute: 1% der Theorie.

c) mit MnO_2.

Darstellung von aktivem MnO_2.

Eine Lösung von 11,1 g $MnSO_4$ in 50 ccm Wasser und eine Lösung von NaOH (11 ccm 40%ige Lösung) wurden gleichzeitig im Laufe einer Stunde zu einer heißen Lösung von $KMnO_4$ (9,6 g in 100 ccm Wasser) unter Rühren zugeführt. Das MnO_2 fiel sofort als feines braunes Pulver aus. Es wurde noch eine Stunde weitergerührt, dann zentrifugiert, der Niederschlag abfiltriert und gewaschen, bis das Waschwasser farblos war. Der Rückstand wurde im Trockenschrank bei 120^0 getrocknet.

1) mit MnO_2 und Lösungsmittel (CCl_4).

Eine Lösung von 100mg Phtaldialkohol in 100 ccm CCl_4 wurde eine halbe Stunde lang mit 1 g fein gepulvertem MnO_2 gerührt. Danach wurde durch ein Faltenfilter filtriert und das Filtrat zur Trockne eingeengt. Man erhielt einen farblos kristallisierenden Rückstand, der mit dem Ausgangsmaterial keine Schmelzpunktsdepression ergibt.

a) 100 mg Phtaldialkohol wurden in 100 ccm CCl_4 gelöst und mit 5 g fein gepulvertem MnO_2 2 Stunden unter gelindem Erwärmen im Wasserbade gerührt. Nach dem Abfiltrieren wurde die Lösung eingedampft. Der kristalline Rückstand erwies sich wieder als Ausgangsmaterial.

b) Eine Lösung von 100 mg Phtaldialkohol in 100 ccm CCl_4, der 5 g MnO_2 zugefügt worden waren, wurde 8 Stunden am Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten wurde abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Der ölige Rückstand konnte nicht als Aldehyd nachgewiesen werden.

2) mit MnO_2 ohne Lösungsmittel.

20 mg Phtaldialkohol wurden mit 500 mg MnO_2 in einer Reibschale innig verrieben, das Gemisch in ein Reagenzglas gefüllt und erst ein wenig, dann stärker erhitzt. Nach der Wasserabscheidung bei 120° steigerte man die Temperatur auf etwa 200°, wo unter deutlicher Rauchentwicklung Zersetzung stattfand. Nach dem Abkühlen wurde der Rückstand in 1 ccm Dioxan aufgenommen. Die Kondensation zum Chinon mit Glyoxalbisulfat verlief positiv.

Oxydation des 3-Methoxyphtaldialkohols zum 3-Methoxyphtaldialdehyd mit MnO_2 (ohne Lösungsmittel).

100 mg 3-Metoxyphtaldialkohol wurden mit 5 g MnO_2 innig verrieben. Proben von je 500 mg wurden auf 10 Reagenzgläser verteilt. Bei langsamem Erwärmen in Schwefelsäure schmolz die Substanz zusammen, bei 100° trat ein leichtes Sintern ein, bei 200° schied sich Wasser ab. Bei etwa 160° trat unter Aufschäumen der Substanz eine Zersetzung ein. Damit bei der heftigen Reaktion keine Substanz durch Verflüchtigen verlorenging, wurden die Dämpfe in ein zweites Reagenzglas mit Dioxan geleitet. Der Aldehyd kristallisiert in feinsten farblosen Nädelchen vom Schmp. 98°.

Darstellung des 2, 3 Dioxy-5 Methoxy-naphtochinons.

20 mg 3-Methoxyphtaldialdehyd wurden in wenig Dioxan aufgenommen. Zu dieser Dioxanlösung wurde eine frisch bereitete Lösung von Glyoxal-Natriumhydrogensulfitverbindung und Natriumcyanid in $^1/_n$ Natriumkarbonatlösung zugegeben und 10 Minuten unter Luftzutritt geschüttelt. Dabei trat langsam eine Blauviolettfärbung ein. Nun wurde vorsichtig angesäuert, wobei sich die Lösung gelb färbte. Der Farbstoff wurde mit Äther aus der Lösung extrahiert und die gesammelten Ätherfraktionen über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingeengt. Als Rückstand verblieb ein rötliches Öl, aus dem sich langsam rote Nadeln abschieden.

Ausbeute: etwa 10 mg.

Entmethylierung des 2, 3 Dioxy-5 Methoxy-naphtochinons.

10 mg 2, 3 Dioxy-5 Methoxynaphtochinon wurden in 5 ccm Eisessig aufgenommen und 2 ccm konz. HBr zugefügt. Die Lösung wurde in ein Bombenrohr einpipettiert und das Reaktionsgemisch 4 Stunden im Wasserbade erhitzt. Die anfänglich gelbe Lösung färbte sich im Laufe der Reaktion tiefrot. Nach dem Abkühlen wurde der Inhalt des Rohres in Wasser gegossen und die wässrige Lösung 4mal mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde der Äther abgedampft und man erhielt als Rückstand rötliche Nadeln, die keinen Schmelzpunkt hatten.

Reinigung des 2, 3, 5 Trioxynaphtochinons durch Chromatographie an Gips.

Der Rückstand wurde in CCl_4 aufgenommen und an einer Gipssäule von 3 cm Höhe und 1 cm Durchmesser chromatographiert. Zum Vergleich wurde eine ebensolche Säule angesetzt, an der 5 mg Aspergillenfarbstoff in CCl_4 chromatographiert wurde. Es war kein Unter-

schied an beiden Säulen zu beobachten. Das Filtrat wurde eingeengt und man erhielt als Rückstand eine unwägbare Menge von rötlichen Kristallen, Nadeln, makroskopisch zu Bäumchen zusammengewachsen.

Redoxpotentialmessung des 2, 3, 5 Trioxy-naphtochinons.

Die durch Chromatographie gereinigte Substanz wurde in 50 ccm Eisessig gelöst und mit Titantrichlorid unter Stickstoff titriert. Im Verlauf der Titration färbte sich die Lösung grün. Die sich ergebenden E Werte wurden auf der Millivoltskala abgelesen. Trotz der außerordentlichen Verdünnung ergaben sich dieselben Werte wie beim Naphtopurpurin und Aspergillorubin.

Nachtrag:

Analyse des Aspergillorubins:

$C_{10}H_6O_5$ (206.85)	Ber.	C 57.97	H 2.92	2 act. H	0.96
	Gef.	C 57.78	H 3.12		1.07
		58.02			

C-Methyl und O-Methylgruppen sind nicht vorhanden.

Anmerkung: Die in der vorliegenden Arbeit wiedergegebenen Bilder sind im Original farbig!

Literaturverzeichnis.

[1]) Beijerinck, N. W., Zbl. Bakterol., Abt. II 6,1.

[2]) Raistrick, Biochem. J. 27, 1170,

[3]) Bortels, Biochem. Z. 182, 301.

[4]) Dietzel und Grubhofer, Unveröffentl. Mitteilung aus dem Göttinger chemischen Institut.

[5]) Küster, Ztschr. f. Pflanzenernährung, 57, 51.

[6]) Tatum, Ann. Rev. Biochem. 13, 667.

[7]) Kluvier und Perquin, Biochem. Ztschr. 266, 82.

[8]) Pfennig, Diss. Göttingen 1952.

[9]) Grubhofer, Chemie, Ing. Technik 1950, 209.

[10]) Pfeiffer, A. 1913, 398, 137.

[11]) Fieser und Peters, A. J. 53, 4080.

[12a]) Schönberg, J. Soc. London, 1940, 1374.

[12b]) Kuhn und Wallenfels, B. 75, 407.

[13]) Willstätter und Pfannenstiel, B. 37, 4744.

[14]) Zahn, A. 462, 86.

[15]) Eistert, Chemismus und Konstitution.

[16]) Süling, Diss. Göttingen 1953.

[17]) Zimmermann und Nehring, Ang. Ch. 63, 556.

[18]) Patt, Diss. Göttingen 1953.

[19]) Godall und Levy, Analyst. 72, 277.

[20]) Weygand, Vogelbach, B. 80, 391.

[21]) King, Chem. J. 1946, 8.

[22]) Corbellini, Gazz. chim. ital. 61, 281.

[23]) Zincke, A. 340, 211.

[24]) Nystrom, J. Am. Soc. 1947, 1197.

[25]) Weygand, Kinkel und Tietjen, B. 84, 625.

[26]) Attenburrow, J. of Chem. Soc. 52, 1094.

[27]) Wallenfels und Möhle, B. 76, 924.

[28]) Fieser, J. of Am. Soc. 48, 2922.

[29]) Dimroth und Kerkovius, A. 399, 36.

Lebenslauf.

Ich wurde am 16. August 1915 als Tochter des Chemikers Dr. Willy O. Herrmann und seiner Ehefrau Emmy, geb. Feldmann, in Nürnberg geboren.

Nach 4 Jahren Volksschule in Oberhaching bei München besuchte ich das Reformrealgymnasium der Luisenschule in München und ging 1933 an das Realgymnasium der Zeltner-Schule in Nürnberg, wo ich im März 1936 die Reifeprüfung bestand. Von 1937—1939 besuchte ich die Reichenbachschule zur Ausbildung technischer Assistentinnen in Göttingen und war von 1940—1945 technische Assistentin am Chemischen Institut der Universität Göttingen.

Seit dem Wintersemester 1945/46 studierte ich an der Math.-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen Chemie und legte am 19. 2. 1948 das Diplomvorexamen und am 15. 11. 1950 das Diplomhauptexamen ab. Daran anschließend fertigte ich im chemischen Institut der Universität Göttingen meine Doktorarbeit an.

Druck: Emil Biehl GmbH · Graph. Großbetrieb · München 3 Schließfach 211